

TESTING METHOD OF BIOODEGRADABILITY

Publication number: JP53084796
Publication date: 1978-07-26
Inventor: UEMATSU YOSHITOSHI; KAGEYAMA HACHIROU
Applicant: KOGYO GIJUTSUIN; KYODO YUSHI
Classification:
- **International:** **G01N33/00; G01N33/00; (IPC1-7): G01N33/00**
- **European:**
Application number: JP19760159259 19761230
Priority number(s): JP19760159259 19761230

Report a data error here

Abstract of JP53084796

PURPOSE:To simply and repidly judge the difficulty of bio-degradability, by meansuring the number of aerobic bacteria before and after aeration, exposing factory drainage etc. to the air under the condition of containing serobic bacteria.

Data supplied from the **esp@cenet** database - Worldwide

⑨日本国特許庁
公開特許公報

⑩特許出願公開
昭53—84796

⑤Int. Cl.²
G 01 N 33/00

識別記号

⑥日本分類
113 E 4
113 E 1

庁内整理番号
6760—49
6760—49

④公開 昭和53年(1978)7月26日

発明の教 1
審査請求 有

(全 5 頁)

⑭生分解性試験方法

鎌倉市手広133の302

①特 願 昭51—159259

⑦出 願 人 工業技術院長

②出 願 昭51(1976)12月30日

⑧復代理人 弁理士 小川信一 外1名

③発 明 者 植松喜稔
横浜市中区本郷町3丁目197番
地

⑨出 願 人 協同油脂株式会社
東京都中央区銀座2丁目16番7
号

④発 明 者 影山八郎

⑩代 理 人 弁理士 小川信一 外1名

明 細 書

1. 発明の名称

生分解性試験方法

2. 特許請求の範囲

物質の生分解性の難易を判定するに際し、該物質の水溶液を好気性菌含有条件下に曝気し、曝気前後における好気性菌の菌数を測定することにより、生分解性の難易を該菌数の増減をもつて判定することを特徴とする生分解性試験方法。

3. 発明の詳細な説明

本発明は生分解性を有する物質の簡単な生分解性試験方法に関するものである。

一般に、生分解とは生分解性物質が微生物による作用を受けて分解されることをいう。たとえば、下水、排水等の水環境中に放出された汚染物質は河川、湖沼等の自然系において生分解され、あるいは下水処理場や排水処理施設等の人為系において生分解処理され浄化されて環境が維持されている。従がつて、環境管理におい

ては排水等水環境に混入するおそれのある物質の生分解性を把握することはその取扱い上極めて重要であり、ここに物質の生分解性試験の意義が存在する。

従来から行なわれている生分解性試験法は、微生物に供試物質を暴露し、これを生分解せしめた後①残存物質量を測定する方法、②消費酸素量を測定する方法及び③発生二酸化炭素量を測定する方法の3種に大別される。これらの方法はいずれも被分解物質の変化量から生分解性を評価しているが、特殊な装置、器具及び高度の分析技術経験を必要とし、また測定結果を得るまでに長時間を要する等測定技術上多くの問題点を有している。

本発明はこれら従来法の欠点を解消し簡易かつ迅速に生分解性の難易を判定しうる新規生分解性試験法を提供するものであり、従来全く着目されていなかった生分解の媒介者である微生物の数の変化に着目し完成されたものである。

即ち本発明は、物質の生分解性の難易を判定

するに際し、該物質の水溶液を、好気性菌を含有する状態において、所望の条件下で曝気し、該曝気前後における好気性菌の菌数を測定することにより、該菌数の増減状態から生分解性の難易を比較判定するという物質の簡易な生分解性試験方法を提供するものである。

本発明方法では、空気吹込み装置及び恒温器のような簡単な装置があれば無経験者でも容易かつ短時間に生分解性試験を行なうことができ、また当然のことながら細菌数の変化を直接把握できる。

本発明方法は、純化学物質、その混合物（固体又は半固体物質等を含む）、工場排水等に適用され、化学物質もしくはそれらの混合物、排水中に含有される物質等の生分解性の難易が判定される。

これらは水を介在させて本発明方法に供されるが工場排水等既に水溶液の状態にあるものはそのまま固体又は半固体状物質等は磨砕又は混練して水に分散した形で本発明方法に供し得る。

小型のエアークンプレッサーあるいは隔膜式等のエアープンプや水流ポンプと散気装置すなわち空気吹込みノズルとを接続したものが適当である。散気装置は多孔体散気球やガラス毛细管が好ましく使用される。曝気容器はガラス製で容量300 ml～1 lのものが好ましく使用される。散気装置と曝気容器は使用するに先立ち、必要であればあらかじめ滅菌しておくことが望ましい。供試物質が水溶液の場合は無希釈、あるいは希釈液で希釈して試験に用い、純品の場合は希釈液に添加して試験を行なう。希釈液はJIS KO 102 工場排水試験方法 16 生物化学酸素消費量の項に記載されている希釈水が適当である。また検液量は300 ml～1 lの範囲が適当である。曝気温度は20～30℃の範囲内で行なうのが特に好ましい。曝気時間は検液中の好気性菌数が飽和となる時間が上限で、上記温度範囲では18～24時間で十分である。曝気時の送気量は、検液中の溶存酸素が飽和量存在する状態で一定ならばよく、たとえば0.5～0.8 l/minの範囲内

以下に本発明の具体的な実施態様の一例を説明する。

まず工場排水等の供試物質検液を容器にとり、落下菌が入らないよう覆いをして、恒温器内で通常5～40℃より好ましくは20～30℃の温度に保ち曝気即ち空気吹込みを開始し、曝気開始時及び一定時間曝気継続後の一定量検液、たとえば1 ml中の好気性菌数を簡易細菌テスターで測定する。測定した好気性菌数の常用対数値の経時変化と被検物質の生分解性の関係は、表1に示すように、たとえば3種に分数し表示される。

表 1

分数	好気性菌数(常用対数値)	生分解性
a	増加	易
b	変化せず	若干難
c	減少	難

表1によつて、検液中の生分解性物質の生分解の難易を知ることができる。

なお、連続曝気用の空気吹込み装置としては

に設定される。曝気開始時に検液中に好気性菌が存在せず、または少ない(10²個/ml以下)ことが明らかな場合は、植種して検液中の菌数を簡易細菌テスターで定量可能な範囲の値にする。検液1 ml当り約10³個が適当である。植種はJIS KO 102 工場排水試験方法 16 生物化学的酸素消費量の項に記載されている方法で行なうことが望ましい。

本発明方法に使用される簡易細菌テスターは、好気性菌の簡易迅速測定が可能なものであれば、形式、培養条件は何れでもよい。一例をあげれば市販品でフィンランド国、オリオンダイアグノスティカ社製の商品名イー・ジー・カルト TTC および同 TBE (Easicult - TTC, - TBE) が使用できる。これは、プラスチック製支持板(75×20 mm)の表裏に、栄養寒天培地を1～2 mmの厚さに塗布したもの(塗布部50×20 mm)を透明プラスチック内筒容器(80φ×90 mm)に納め、支持板と一体に接続したねじふた(34φ×18 mm)で密封したものであり、内部は滅菌してあ

る。使用時には、ねじふたをあげ、ふたつきプラスチック製支持板をとり出しその培地塗布部分を検液中に浸漬し、引き上げて、容器に納めねじふたで密封し、容器ごと恒温器に入れ25～30℃において、24時間培養する。培養後容器よりプラスチック製支持板をとり出し、本テストに添付されているモデルチャート、すなわち検液1ml当りの好気性菌数が 10^3 、 10^4 、 10^5 、 10^6 、 10^7 個、各々の場合につき、それぞれの菌数に対応するコロニー密度を標準スケール板に表わしたものと対照させる。培養後のプラスチック製支持板上のコロニー密度に最も似ているコロニー密度を表わすスケールに対応する菌数が、その検液1ml当りの好気性菌数となる。本テストによる好気性菌数の定量可能範囲は検液1ml当り好気性菌数 10^3 、 10^4 、 10^5 、 10^6 、 10^7 個の5水準であり、菌数の判定には 10^3 以下($10^3 >$ と表記)、 10^7 以上($10^7 <$ と表記)の2水準が前記5水準に加えられる。

以上は曝気前後における好気性菌の菌数測定

の一例であるが、勿論菌数測定自体は他の任意の測定手段で行なつてもよい。

以上説明したように本発明方法は、従来法に比し、必要器具が少なく操作が簡単なため、特殊な技術経験を必要とせず、短時間のうちに結果を得られるという利点があり、工場排水等の生分解性を良好にするためとられた処置の適否の検討、JIS K0102工場排水試験方法16生物化学的酸素消費量(BOD)の測定における生物化学的酸素消費量の測定条件の適否の検討、河川水、湖沼水等の栄養源の有無の検討等の目的に広範囲に利用される。

たとえばBODの測定において同一被検液について本発明方法を適用することにより、BOD測定の際の植種の必要の有無、生物の増殖を阻害する物質の有無、生物の増殖に対する物質の影響、BOD値の正常性、異常性、栄養塩とその添加量の適否等、従来BOD測定において判断の困難であつた事象に対して生物サイドから検討を行うことが可能となり、BOD試験の精度が高め

られ、汚濁指標としてのBODは一層その重要度を増すことになる。

次に実施例により、本発明を説明する。

実施例1

供試物質として切削油を使用している工場の排水Aを用い、次の希釈率に希釈液で希釈したものを検液とした。希釈率(倍率) $\times 1 \times 50$ 、 $\times 500$ 。試験条件は検液量500ml、送気量0.6ℓ/min、曝気温度 $30 \pm 0.5^\circ\text{C}$ であり、この条件は実施例2及び3においても同様である。結果を表2に示す。

表 2

供 試 物 質	希 釈 率 (倍 率)	好 気 性 菌 数 (個 / ml)		生 分 解 性 の 判 定 [※]
		曝 気 時 間 (hr)		
		0	24	
工場排水 A	× 1	10 ⁷	10 ³ >	c (難)
	× 50	10 ⁵	10 ⁷ <	a (易)
	× 500	10 ⁴	10 ⁷	a (易)

^{*} 記号は表1の分類による。

すなわち、本工場排水Aは $\times 50$ 以上に希釈すれ

ば生分解処理が容易であると判定された。

実施例2

供試物質としてソリュブル形水溶性切削油、30倍希釈水溶液を用い、次の希釈率に希釈液で希釈したものを検液とした。希釈率(倍率) $\times 1 \times 10 \times 50$ 。結果を表3に示す。

表 3

供 試 物 質	希釈率 (倍率)	好気性菌数(個/ml)		生分解性の判定
		曝気時間 (hr)		
		0	24	
ソリュブル形	× 30	10 ³	10 ³ >	c (難)
水溶性切削油	× 300	10 ³	10 ³	b (稍難)
希釈水溶液	×1500	10 ³	10 ⁷	a (易)

^{*} 記号は表1の分類による。

すなわち、本ソリュブル形水溶性切削油は300～1500倍以上に希釈すれば生分解処理可能であると判定された。

実施例3

供試物質として試薬特級グルコース及びグルタミン酸の混合物(1:1)を用い、次の各量

表 5

供試物質	希釈率 (倍率)	曝気温度 (℃)	好気性菌数増加の有無 ※		
			曝気時間 (hr)		
			6	24	48
工場排水A	×500	10	—	—	—
		20	—	+	+
		30	—	+	+
		40	—	—	—

※ 記号の説明 { — : 菌数増加せず
+ : 菌数増加

すなわち、曝気温度は 20℃ ないし 30℃ が好ましい温度であることが認められた。

実施例 5

供試物質として、グルコース及びグルタミン酸の混合物(1:1)及びソリュブル形水溶性切削油 30 倍希釈水溶液を用い、曝気継続各時間ごとの検液 1 ml 中の好気性菌数を比較した。結果を表 6 に示す。なお試験条件は実施例 1 と同じである。

手 続 補 正 書

昭和 52 年 2 月 8 日

特許庁長官 殿

1. 事件の表示

昭和 51 年特許願第 159259 号

2. 発明の名称

生分解性試験方法

3. 補正をする者

事件との関係 特許出願人

住所 東京都千代田区霞が関 1 丁目 3 番 1 号
氏名 (114)工業技術院長 堀田 雅 男住所 東京都中央区銀座 1 丁目 19 番 13 号
名称 協同油脂株式会社
代表者 小 船 伊 助4. 工業技術院長の復代理人
協同油脂株式会社の代理人住所 東京都港区西新橋 3 丁目 23 番 8 号
馬場ビル
小川・野口国際特許事務所内(電話 431-5361)氏名 (6686)弁護士 小 川 信 一
(6685)弁護士 野 口 賢 照

5. 補正命令の日付

6. 補正の対象 明細書「発明の詳細な説明」の欄

を希釈液に添加したものを検液とした。添加量 (ppm) は 300, 50。結果を表 4 に示す。

表 4

供 試 物 質	添加量 (ppm)	好気性菌数(個/ml)		生分解性の判定 ※
		曝気時間 (hr)		
		0	24	
グルコース、 グルタミン酸	300	10 ³	10 ⁶	a (易)
混 合 物	50	10 ³	10 ⁵	a (易)

※ 記号 a, b, c は表 1 の分類による。

すなわち、本物質は希釈率にあまり関係なく生分解処理容易であると判定された。

次に曝気温度および時間が好気性菌数増加率に及ぼす影響は、実施例 4 及び 5 に示す。

実施例 4

供試物質として切削油を使用している工場の排水 A を用い、曝気温度を変化させた場合の好気性菌数の増加の有無を比較した。結果を表 5 に示す。なお、曝気温度以外の試験条件は実施例 1 と同じである。

表 6

供試物質	希釈率(倍率) 添加量(ppm)	好気性菌数 (個/ml)			
		曝気時間 (hr)			
		0	6	24	48
グルコース・ グルタミン酸 混 合 物	300 ppm	10^3	10^3	10^5	$10^7 <$
ソリュブル形 水溶性切削油 希釈水溶液	× 30	10^3	$10^3 >$	$10^3 >$	$10^3 >$
	×1500	10^3	10^4	10^7	$10^7 <$

すなわち、曝気継続時間は 24 時間で結果の判定にはおおむね半分であることが認められた。

以上から明らかなように本発明の試験方法は簡単な装置、器具を用いて、少なくとも 2 日以内の短時間で大体の生分解性の難易を知ることができる。

7. 補正の内容

- (1) 明細書第4頁第11行、同第13行目の「
分数」とあるを、「分類」に補正する。
- (2) 明細書第5頁第11～12行目、第6頁第6行
目の「JIS KO 102」とあるを、「JISK 0102」
と補正する。
- (3) 明細書第10頁第6行目の「1,×10,×50。」
の次に下記の文を挿入する。
「(供試水溶液の希釈倍率は×30,×300,
×1500)」
- (4) 明細書第13頁下から第5行目の「半分」
とあるを、「十分」に補正する。